

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **11127899 A**

(43) Date of publication of application: **18 . 05 . 99**

(51) Int. CI

**C12Q 1/68
C12N 15/09
//(C12Q 1/68 , C12R 1:01), (C12N
15/09 , C12R 1:01)**

(21) Application number: **09297085**

(71) Applicant: **YAKULT BIO SCIENCE KENKYU
ZAI DAN**

(22) Date of filing: **29 . 10 . 97**

(72) Inventor: **TOOMA YUKIKO
ITO KIKUJI**

(54) OLIGONUCLEOTIDE PROBE SPECIFIC IN
SPECIES TO BACTEROIDES GROUP
BACTERIUM

and synthesizing these sequences by DNA synthesizer.

COPYRIGHT: (C)1999,JPO

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new probe comprising an oligonucleotide probe having a specific base sequence or a sequence complementary to the base sequence and useful for identification of species of bacteroides group bacterium in the intestine and analysis or the like of intestinal flora.

SOLUTION: This oligonucleotide probe has a base sequence represented by formula I to formula V or the like or a base sequence which is complementary to the base sequence and each base sequence of the following formulas is specific to the following species of bacteroides (B) group bacterium and useful for specific identification or the like of bacteroides group bacterium: The sequence of formula I: Bacteroides ovatus, the sequence of formula II: Bacteroides fragilis, the sequence of formula III: Bacteroides uniformis, the sequence of formula IV: Bacteroides eggerthii, the sequence of formula V: Porphyromonas asaccharolytica. These probes are obtained by comparing 16Sr RNA gene sequence of each species of bacteroides group registered in database and designing the structure

ATACTGTTTC CAATATATTG TGT I

GACATGTTTC CACATCATTG CAC II

GACATGTATC CACATCATTG AGT III

GTAATGTTTC CACTACATTG CGC IV

CTCCAGTACA CTCTAGCTAG A V

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-127899

(43)公開日 平成11年(1999)5月18日

(51)Int.Cl.⁶
C 12 Q 1/68
C 12 N 15/09
// (C 12 Q 1/68
C 12 R 1:01)
(C 12 N 15/09
ZNA

識別記号

F I
C 12 Q 1/68
C 12 N 15/00

A
ZNAA

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 9 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平9-297085

(22)出願日 平成9年(1997)10月29日

(71)出願人 597099885
財団法人ヤクルト・バイオサイエンス研究
財団
東京都港区東新橋1丁目1番19号
(72)発明者 遠間 有希子
東京都杉並区宮前3-23-4
(72)発明者 伊藤 喜久治
埼玉県志木市館2-1-7-207
(74)代理人 弁理士 有賀 三幸 (外3名)

(54)【発明の名称】 バクテロイデスグループ細菌に種特異的なオリゴヌクレオチドプローブ

(57)【要約】

【解決手段】 配列番号1～18から選ばれる塩基配列
又は該塩基配列に相補的な配列を有するバクテロイデス
細菌種特異的オリゴヌクレオチドプローブ、並びにこの
プローブを使用するバクテロイデスグループ細菌の種特
異的同定方法。

【効果】 迅速、簡便にバクテロイデス細菌の種特異的
同定を行うことができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号1～18から選ばれる塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドプローブであって、該各塩基配列が下記のバクテロイデスグループ細菌の種に特異的なものであることを特徴とするオリゴヌクレオチドプローブ。

(1) 配列番号1：バクテロイデス・オバタス (Bacteroides ovatus)

(2) 配列番号2：バクテロイデス・フラギリス (Bacteroides fragilis)

(3) 配列番号3：バクテロイデス・ユニフォルミス (Bacteroides uniformis)

(4) 配列番号4：バクテロイデス・エガーシー (Bacteroides eggerthii)

(5) 配列番号5：ポルフィロモナス・アサカリティカ (Porphyromonas asaccharolytica)

(6) 配列番号6：ポルフィロモナス・サーカムデンタリア (Porphyromonas circumdentaria)

(7) 配列番号7：ポルフィロモナス・ジンジバリス (Porphyromonas gingivalis)

(8) 配列番号8：ポルフィロモナス・サリボーサ (Porphyromonas salivosa)

(9) 配列番号9：バクテロイデス・ディスタソニス (Bacteroides distasonis)

(10) 配列番号10：バクテロイデス・スプランキニカス (Bacteroides spianchicus)

(11) 配列番号11：リケネラ・ミクロヒューザス (Rikenella microfusus)

(12) 配列番号12：プレボテラ・メラニノゲニカ (Prevotella melaninogenica)

(13) 配列番号13：プレボテラ・デンティコラ (Prevotella denticola)

(14) 配列番号14：プレボテラ・コルポリス (Prevotella corporis)

(15) 配列番号15：プレボテラ・ディザイエンス (Prevotella disiens)

(16) 配列番号16：プレボテラ・ブカーリス (Prevotella buccalis)

(17) 配列番号17：プレボテラ・ブカエ (Prevotella buccae)

(18) 配列番号18：プレボテラ・ロッシェイー (Prevotella loscheii)

【請求項2】 請求項1記載のオリゴヌクレオチドプローブを使用することを特徴とするバクテロイデスグループ細菌の種特異的同定方法。

【請求項3】 (1) 検体中の核酸を抽出する工程、(2) 抽出した核酸を増幅させる増幅工程、及び(3) 増幅した核酸に請求項1記載のオリゴヌクレオチドプローブの1又は2以上を反応させる工程を含む請求項2記載のバクテロイデスグループ細菌の種特異的同定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、ヒト及び動物の腸管内に生息するバクテロイデスグループ細菌に特異的なプローブ及び該プローブを使用したバクテロイデスグループ細菌の種特異的同定方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 ヒトや動物等の腸内細菌叢を同定・解析することは、個体の健康状態の把握、腸管内の病理的研究等に非常に有用である。現状ではその手段として、種々の選択培地を組み合わせて用いる選別方法や顕微鏡観察が主に行われている。

【0003】 菌種の同定、腸内細菌叢の解析を行うためには、対象となる個体の糞便を嫌気条件下において希釈液で希釀し、これを培地上にまき、嫌気性培養を行う必要がある。しかし、培養には数日から数週間の時間を要し、コロニー数のカウント等の操作も煩雑であった。

【0004】 腸内細菌のうちバクテロイデスグループの細菌は、グラム陰性の嫌気性菌であり、ヒトの腸管内における最優勢菌である。通常、この菌は人体に被害を及ぼすことはないものの、菌体表面のLPS (lipopolysaccharide) には、トキシン様の毒素活性があることも見出されているため、比較的悪玉菌として認識されている。

【0005】 バクテロイデスグループ (Bacteroidaceae) は近年、新しい属が提唱され、そのサブグループは、バクテロイデス (Bacteroides) クラスター、プレボテラ (Prevotella) クラスター、ポルフィロモナス (Porphyromonas) クラスター、ニュー1 (New1) 、ニュー2 (New2) の5つに大別される。

【0006】 バクテロイデスグループ細菌の生態学的研究や臨床株の同定等、大量の菌株をスクリーニングする場合、その同定法としては、主に表現形質、すなわち、糖分解性状、ガス産生、発育温度等を検査することが行われている。また、近年では、DNA-DNAホモジニティによる判定、モノクローナル抗体による検出も行われるようになっている。

【0007】 しかしながら、表現形質を基にした同定法やモノクローナル抗体の作成は、操作が煩雑であり、かつ試験者の熟練を要するものであった。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】 このように、バクテロイデスグループ細菌の種の同定・解析を行うには、長期間を要し、また操作が煩雑である等の問題があった。従って、本発明の目的は、バクテロイデスグループ細菌の種を迅速かつ簡便に同定・解析し得る方法を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】 斯かる実情に鑑み本発明者は鋭意研究を行ったところ、バクテロイデスグループ

細菌用オリゴヌクレオチドプローブを見出し、これを用いれば、バクテロイデスグループ細菌の種特異的な同定を迅速かつ簡便に行うことが可能となることを見出し本発明を完成した。

【0010】すなわち本発明は、配列番号1～18から選ばれる塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチドプローブであって、該各塩基配列が下記のバクテロイデスグループ細菌の種に特異的なものであることを特徴とするオリゴヌクレオチドプローブを提供するものである。

(1) 配列番号1：バクテロイデス・オバタス (*Bacteroides ovatus*)

(2) 配列番号2：バクテロイデス・フラギリス (*Bacteroides fragilis*)

(3) 配列番号3：バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)

(4) 配列番号4：バクテロイデス・エガーシー (*Bacteroides eggerthii*)

(5) 配列番号5：ポルフィロモナス・アサカリティカ (*Porphyromonas asaccharolytica*)

(6) 配列番号6：ポルフィロモナス・サーカムデンタリア (*Porphyromonas circumdentaria*)

(7) 配列番号7：ポルフィロモナス・ジンジバリス (*Porphyromonas gingivalis*)

(8) 配列番号8：ポルフィロモナス・サリボーサ (*Porphyromonas salivosa*)

(9) 配列番号9：バクテロイデス・ディスタソニス (*Bacteroides distasonis*)

(10) 配列番号10：バクテロイデス・スプランキニカ (*Bacteroides spianchicus*)

(11) 配列番号11：リケネラ・ミクロヒューザス (*Rikenella microfusus*)

(12) 配列番号12：プレボテラ・メラニノゲニカ (*Prevotella melanogenica*)

(13) 配列番号13：プレボテラ・デンティコラ (*Prevotella denticola*)

(14) 配列番号14：プレボテラ・コルポリス (*Prevotella corporis*)

(15) 配列番号15：プレボテラ・ディザイエンス (*Prevotella disiens*)

(16) 配列番号16：プレボテラ・ブカーリス (*Prevotella buccalis*)

(17) 配列番号17：プレボテラ・ブカエ (*Prevotella buccae*)

(18) 配列番号18：プレボテラ・ロッシェイ (Prevotella loschei)

【0011】また、本発明は、該オリゴヌクレオチドプローブを使用することを特徴とするバクテロイデスグループ細菌の種特異的同定方法を提供するものである。

【0012】更に本発明は、(1) 検体中の核酸を抽出

する工程、(2) 抽出した核酸を増幅させる増幅工程、及び(3) 増幅した核酸に上記オリゴヌクレオチドプローブの1又は2以上を反応させる工程を含むバクテロイデスグループ細菌の種特異的同定方法を提供するものである。

【0013】

【発明の実施の形態】バクテロイデスグループとは、バクテロイデス属細菌と近縁のもの、すなわち、その表現形質や16S r RNA配列が類似するものである。元来、その表現形質の類似性からバクテロイデス属の細菌と分類されていたものでも、近年になって16S r RNA配列や進化の経緯等が異なることが判明したものは、このグループには含まれない。

【0014】上記の本発明のプローブは、更に菌を種レベルにまで、簡便、迅速かつ高精度に同定できるものである。

【0015】本発明のプローブを設計する際には、プライマーのターゲットとして、系統分類の指標として信頼性の高い16S r RNAを用い、同定・解析には、PCR法等の手段が必要となるため、RNAでなくDNAを用いた。

【0016】プローブの塩基配列、すなわちバクテロイデスグループに特異的な16S r RNA遺伝子配列は、データベース (DDBJ, Gene bank, RDP等) に登録されているバクテロイデスグループ各菌種の塩基配列を比較・検討して設計した。

【0017】プローブを作成する場合には、ハイブリダイズの特異性、合成の行いやすさ等の理由から遺伝子の全長を、約20から50bp程度とすることが好ましいため、これと合致するよう設計を行った。また、プローブの長さは、塩基配列の種類による解読のしやすさ等の理由により、17～26bpとなっている。これらは操作上最も好適な長さであるが、使用に際しては、各々の16S r RNA遺伝子中において、該オリゴヌクレオチドに隣接する数～数十bpの塩基配列を増加させたものを用いても良い。

【0018】このようにして得られたプローブのうち、配列番号1の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものは、バクテロイデス・オバタスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0019】配列番号2の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはバクテロイデス・フラギリスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0020】配列番号3の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはバクテロイデス・ユニフォルミスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0021】配列番号4の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはバクテロイデス・エガーシーに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0022】配列番号5の塩基配列又は該塩基配列に相

補的な配列を有するものはポルフィロモナス・アサカロリティカに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0023】配列番号6の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはポルフィロモナス・サーカムデンタリアに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0024】配列番号7の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはポルフィロモナス・ジンジバリストに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0025】配列番号8の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはポルフィロモナス・サリボーサに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0026】配列番号9の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはバクテロイデス・ディスタソニスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0027】配列番号10の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはバクテロイデス・スプランキニカスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0028】配列番号11の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはリケネラ・ミクロヒュザスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0029】配列番号12の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはプレボテラ・メラニノゲニカに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0030】配列番号13の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはプレボテラ・デンティコラに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0031】配列番号14の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはプレボテラ・コルポリスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0032】配列番号15の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはプレボテラ・ディザイエンスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0033】配列番号16の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはプレボテラ・ブカーリスに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0034】配列番号17の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはプレボテラ・ブカエに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0035】配列番号18の塩基配列又は該塩基配列に相補的な配列を有するものはプレボテラ・ロッシェーに種特異的なオリゴヌクレオチドプローブである。

【0036】上記のように設計したプローブは、その塩基配列に従い、DNA合成機により、人工的に合成される。その種特異性は、バクテロイデスグループ及び代表的腸内細菌の基準株及び標準株を用いて16S r RNAに対する結合能を指標として、確認した。

【0037】菌種特異性は、上記の菌株を各々単独で培

養した後DNAを抽出し、公知のプライマーを使用して、16S r RNA部分を増幅し、電気泳動によりPCRプロダクトを確認した。これに本発明のプローブをハイブリッドさせ、DIG detection kitによりハイブリッドの検出を行った。なお、これらの菌株は光岡らの方法（腸内菌の世界—嫌気性菌の分離と同定、光岡知足、叢文社）により、生物・生化学的性状を確認した。

【0038】従って、本発明のプローブは、単独で又は複数組み合わせて、更に蛍光標識等の修飾を行う等して使用すれば、バクテロイデスグループ細菌を種特異的に同定を行うことができる。

【0039】具体的には、(1) 検体中の核酸を抽出する工程、(2) 抽出した核酸を増幅させる増幅工程、及び(3) 増幅した核酸に上記のオリゴヌクレオチドプローブの1又は2以上を反応させる工程を含むバクテロイデス属細菌の種特異的同定方法が好ましい例として挙げられる。ここで検体としては、ヒトや動物から分離した物、例えば糞便等が挙げられる。工程(1)において、検体から核酸を抽出する方法としては、例えば検体を適当な培地上で培養し、生じたコロニーを1つずつSDSで溶解し、次いでタンパク質の除去、エタノール沈殿等を行った後、TEバッファー等に溶解する方法が挙げられる。また、工程(2)において抽出した核酸を増幅させる方法としては、PCR反応を利用すればよく、この後、増幅した核酸は電気泳動等により確認すればよい。更に工程(3)の方法としては、増幅された核酸と本発明のプローブの1又は2以上のハイブリダイゼーションを行う方法が挙げられる。

【0040】

【実施例】次に、実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明は、これらに限定されるものではない。

【0041】実施例1 プローブの作成：プローブの塩基配列、すなわちバクテロイデスグループ細菌に種特異的な16S r RNA遺伝子配列は、データベース(DD BJ, Gene bank, RDP等)に登録されているバクテロイデスグループ各菌種の塩基配列を比較・検討して設計した。その結果、配列番号1～18の塩基配列を有するプローブが得られた。ここでDNAの合成は、DNA合成機を用いて行った。

【0042】実施例2 プローブの特異性の確認

(1) 菌株の培養及びDNAの抽出

菌株はJCM、DSM、ATCC等から入手したバクテロイデスグループの基準株及び標準株26株を用いた。これらの菌株をEG寒天培地上で37℃、48時間嫌気的に純培養した。培養後のコロニー各1つずつをSDSで溶解し、除タンパク、エタノール沈殿後、TEバッファーに溶解させたDNAをテンプレートとして使用した。

【0043】(2) PCR反応

プライマーとして公知のユニバーサルプライマーである 8F(配列番号19)、15R(配列番号20)、Takara EX Taqを使用して16S rRNA部分を増幅し、電気泳動によりPCRプロダクトを確認した。なお、PCR反応及び電気泳動の条件は以下のとおりである。

- (PCRの条件) a. 72℃、3分
- b. 94℃、30秒
- c. 55℃、30秒
- d. 72℃、2分
- e. 94℃、2分

(b~dは3~5回くり返した)

(電気泳動) 100V、20分、0.8%アガロース、*

種特異的プローブのハイブリダイゼーション条件

プローブ		ホルムアミド濃度	ハイブリダイゼーション温度	洗浄温度
配列番号	略称			
1	bacova	30%	45℃	65℃
2	bacfra	20%	45℃	70℃
3	bacuni	20%	45℃	65℃
4	bacegg	20%	45℃	70℃
5	porasa	20%	45℃	60℃
6	porcir	20%	45℃	60℃
7	pargin	20%	45℃	60℃
8	porsal	20%	45℃	60℃
9	pordis	20%	45℃	60℃
10	porspl	20%	45℃	60℃
11	poromic	20%	45℃	60℃
12	premel	40%	45℃	75℃
13	preden	40%	45℃	75℃
14	precor	0%	45℃	55℃
15	predis	0%	45℃	55℃
16	prebils	20%	45℃	60℃
17	prebce	20%	45℃	60℃
18	prelos	0%	45℃	55℃

* TBEバッファー中で行う。

【0044】(3) ハイブリダイゼーション

PCRプロダクトをナイロンメンブレンに固定後、本発明の各プローブとハイブリダイゼーションを行い、菌株を同定した。メンブレンへの固定は、10倍のSSCバッファーで湿潤したメンブレンにPCRプロダクトを直接プロットし、変性溶液に浸し、中和溶液に浸した後乾燥し、UVで固定することにより行った。ハイブリダイゼーションの条件を表1に示す。

10 【0045】

【表1】

【0046】(4) プライマーの特異性の確認

上記の基準株及び標準株26株について、プライマーによる同定結果と保存機関に登録されている菌種名とを比較した。その結果、両者の同定結果は同一であった。※

※(表2~表4)

【0047】

【表2】

種特異的プローブの特異性(1)

細菌種	プローブ			
	bacova	bacfra	bacuni	bacegg
Bacteroides ovatus	+	-	-	-
B. thetaiotaomicron	-	-	-	-
B. fragilis	-	+	-	-
B. uniformis	-	-	+	-
B. eggerthii	-	-	-	+
B. vulgaris	-	-	-	-

【0048】

【表3】

種特異的プローブの特異性(2)

細菌種	プローブ					
	porasa	porcir	pargin	porsal	pordis	porspl
P. asaccharolytica	+	-	-	-	-	-
P. circumdentaria	-	+	-	-	-	-
P. gingivalis	-	-	+	-	-	-
P. salivosa	-	-	-	+	-	-
B. distasonis	-	-	-	-	+	-
B. splanchnicus	-	-	-	-	-	+
R. microfusus	-	-	-	-	-	+

P : Porphyromonas

B : Bacteroides

R : Rikenella

【0049】

【表4】

種特異的プローブの特異性(3)

細菌種	プローブ						
	premel	preden	precor	predis	prebis	prebce	prelos
P. melaninogenica	+	-	-	-	-	-	-
P. veroralis	-	-	-	-	-	-	-
P. denticola	-	+	-	-	-	-	-
P. corporis	-	-	+	-	-	-	-
P. disiens	-	-	-	+	-	-	-
P. intermedia	-	-	-	-	-	-	-
P. oris	-	-	-	-	-	-	-
P. buccalis	-	-	-	-	-	+	-
P. buccae	-	-	-	-	-	-	+
P. oralis	-	-	-	-	-	-	-
P. loscheii	-	-	-	-	-	-	+
P. ruminicola	-	-	-	-	-	-	-

P : Prevotella

【0050】

【発明の効果】本発明のプローブを使用すれば、バクテ

ロイデスグループ細菌の種特異的な同定が迅速、簡便かつ高精度に行うことができる。また、他の菌属等に特異的なプローブ、プライマーなどと組み合わせれば、腸内細菌叢の解析も迅速、簡便に行え、解析の結果から個体や消化管の状態を把握することも可能である。

【0051】

【配列表】

配列

ATACTGTTTC CAATATATTCT GGT

23

【0052】配列番号：2

配列の長さ：23

配列の型：核酸

*

* 配列番号：1
配列の長さ：23
配列の型：核酸
鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

GACATGTTTC CACATCATTC CAC

23

【0053】配列番号：3

配列の長さ：23

配列の型：核酸

※ 鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

GACATGTATC CACATCATTC AGT

23

【0054】配列番号：4

配列の長さ：23

配列の型：核酸

★ 鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

GTAATGTTTC CACTACATTG CGC

23

【0055】配列番号：5

配列の長さ：21

配列の型：核酸

☆ 鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

CTCCAGTACA CTCTAGCTAG A

21

【0056】配列番号：6

配列の長さ：21

配列の型：核酸

◆ 鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

GTTTGCTTGA GAGGAGACGA G

21

【0057】配列番号：7

配列の長さ：21

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

CGCCACTGAA GTCAAGCCCG G

21

【0058】配列番号：8

配列の長さ：21

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

TTTGGCTTGA GTATAGATGA A

21

【0059】配列番号：9

配列の長さ：17

配列の型：核酸

鎖の数：1本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：DNA

配列

GCTTGAGTAT GTTTGAG

17

【0060】配列番号：10

50 配列の長さ：21

13

(8)

14

配列の型：核酸
鎖の数：1本鎖

配列

CTCGCCTGTA CTCCAGTTA C

【0061】配列番号：11

配列の長さ：21

配列の型：核酸

配列

TGCATCTACT CTCCAGCCCC A

【0062】配列番号：12

配列の長さ：20

配列の型：核酸

配列

GTCTTCGATG ACGGCATCAG

【0063】配列番号：13

配列の長さ：26

配列の型：核酸

配列

CCTAACATC TCTGTATCGT TCTCCT

【0064】配列番号：14

配列の長さ：25

配列の型：核酸

配列

ATCACCATCT CTGGATCTT CCTCT

【0065】配列番号：15

配列の長さ：26

配列の型：核酸

配列

CCTAACATC TCTGTATCGT GCTCCT

【0066】配列番号：16

配列の長さ：20

配列の型：核酸

配列

ACGTCGTTG CTGACATCAA

【0067】配列番号：17

配列の長さ：26

配列の型：核酸

配列

CTTCATCATC TCTGAATCAT TCTCCT

【0068】配列番号：18

配列の長さ：18

配列の型：核酸

配列

TCTCCGAATC GTTCCGCC

【0069】配列番号：19

配列の長さ：20

配列の型：核酸

配列

AGACTTTGAT CMTGGCTCAG

【0070】配列番号：20

* トポロジー：直鎖状

* 配列の種類：DNA

21

※鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

※ 配列の種類：DNA

21

★鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

★ 配列の種類：DNA

20

☆鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

☆ 配列の種類：DNA

26

◆鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

◆ 配列の種類：DNA

25

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：DNA

26

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：DNA

20

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：DNA

26

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：DNA

18

鎖の数：1本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：DNA

20

(9)

特開平11-127899

15

16

配列の型：核酸
鎖の数：1本鎖

* トポロジー：直鎖状

* 配列の種類：DNA

配列

AAGGAGGTGA TCCARCCGCA

20

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6
C 1 2 R 1:01)

識別記号

F I